

La Insoportable Levedad del Gen 1: la Genética Molecular en Perspectiva Histórica

1.- Los Periodos Clásico, Romántico y Dogmático de la Genética Molecular

Enrique Morgado Alcayaga
emorgado@usach.cl

Bioquímico,
Profesor Titular de Fisiopatología,
Facultad de Ciencias Médicas,
Universidad de Santiago de Chile,
Investigador en Biología Teórica.



Resumen

La Genética progresa a pasos tan agigantados que el intento transmitir una visión panorámica del conocimiento en esta importante disciplina está condenado “a priori” a quedar inmediatamente obsoleto. Conceptos que hubieran sido considerados disparatados hace pocos años son la norma en nuestros días. Los avances en Genética han conducido a una gran variedad de campos distintos que hacen difícil tener una comprensión total de esta ciencia. El número de genes “tradicionales” (codificadores de proteínas) ha resultado considerablemente menor que lo que se pensaba inicialmente. Los genes, que se consideran tenían sólo una función específica, podrían tener una variedad de ellas. Partes del patrimonio genético que se consideraban como remanentes históricos de la evolución, o simplemente como “chatarra” evidencian importantes funciones. Los patrones tradicionales de herencia ya no aparecen inamovibles, y hasta la expresión de un gen puede cambiar de patrón hereditario de una generación a otra. Los conocimientos actuales están llevando a volver a considerar el papel de las proteínas en la herencia, aunque estas moléculas fueron consideradas hasta no hace mucho el objeto del mensaje genético. En la primera parte de esta serie se revisará los orígenes de la revolución en genética.

Introducción

La Genética es la ciencia de la herencia, y de los mecanismos por los cuales las características (rasgos, fenotipos) son pasados de una generación a la siguiente. La Genética como disciplina tiene cerca de un siglo y recibió su nombre de William Bateson, quien colaboró con Archibald Garrod en dilucidar el patrón de herencia de la alcaptonuria, una enfermedad que se caracteriza por la eliminación de orina negra (la coloración se debe a un catabolito, el ácido homogentísico). De los 32 casos

estudiados por Garrod, 19 correspondían a sólo 7 familias y en la mayoría de los casos los padres de los niños alcaptonúricos eran primos hermanos (Pierce, 2006).

Sin duda el interés de la humanidad por la transmisión de rasgos comenzó muy temprano (entre 10.000 – 12.000 a. C.) cuando se manipuló plantas y animales para obtener generaciones sucesivas con rasgos deseables.

Los mecanismos de transmisión de rasgos también interesaron a científicos griegos como Alcmeon (c. 520

a. C.) y Aristóteles (384 – 322 a. C.) quienes elaboraron teorías “genéticas” actualmente consideradas erróneas, pero que tuvieron gran influencia hasta fines del siglo XIX (Pierce, 2006).

Las primeras evidencias escritas sobre conocimientos de genética provienen de escrituras hindúes que sugieren no casarse con personas que manifiesten rasgos no deseados que puedan pasar a la descendencia.

También el Talmud hebraico aconseja no circuncidar a niños cuyos hermanos anteriores hayan muerto por hemorragia como consecuencia de esta práctica.

El primer escrito relativamente moderno sobre “genética” se debe a Joseph Gottlieb Kölreuter (1733 – 1806) quien cruzó plantas sin lograr descubrir ningún patrón general de herencia.

Posteriormente, e importante desde el punto de vista de las funciones que se aducirían posteriormente a los “genes”, Gerardus Johannes Mulder introdujo a la literatura científica el término “proteína”, que había sido acuñado por Jöns Jacob Berzelius y que se lo refirió en una carta en 1838.

El científico que primero determinó los mecanismos de transmisión hereditaria fue Gregor Mendel (1822 – 1884), trabajando en *Pisum sativum* (arveja). Los conocimientos en Genética antes del aporte de Gregor Mendel han sido revisados recientemente por Cobb (2006).

La arveja es una planta hermafrodita (tiene los dos tipos de órganos productores de gametos en la misma flor y carece de cromosomas sexuales). Después de muchos años de estudio, Mendel estableció tres principios fundamentales conocidos en la actualidad como “leyes de Mendel”.

El principio de la dominancia (también llamado principio 0), establece que si un rasgo tiene dos manifestaciones alternativas (fenotipos, determinados por variantes del mismo gen, llamados alelos), uno encubre al otro.

El primer postulado establece que los dos progenitores aportan “factores” (denominados posteriormente genes) que codifican determinado rasgo, que se manifiesta según el principio de la dominancia en la descendencia, siendo irrelevante la procedencia (paterna o materna)

del gen. Estos “factores” se separarían en la formación de los gametos.

El segundo postulado establece que los factores determinan un rasgo son totalmente independientes de los factores que determinan otros rasgos.

La investigación posterior reveló que los tres postulados de Mendel no son válidos en todas las situaciones posibles. En el caso del “principio 0”, ha podido demostrarse que en la mayoría de los casos los genes se coexpresan (cuando los genes codifican proteínas, se sintetizan dos proteínas distintas, y sólo una confiere el rasgo).

Hay genes que impiden la manifestación de genes alelos (en el caso de los genes que codifican para proteínas), y en bastantes casos descritos tiene relevancia la procedencia (paterna o materna) del gen, lo que provoca que la validez del primer principio sea sólo parcial.

En la arveja, que sólo tiene siete cromosomas, necesariamente hay más genes que cromosomas, lo que impide la segregación independiente de los genes que codifican rasgos diferentes, como fue preconizado en el segundo principio.

Es realmente curioso que Mendel estudiara siete rasgos distintos en la arveja. De cumplirse los postulados de Mendel, estos rasgos debieran estar codificados cada uno en un cromosoma independiente.

En forma muy breve, en la actualidad se conocen cinco patrones de herencia cromosómica: 1) autosómica dominante o 2) recesiva; 3) ligada a X dominante o 4) recesiva; 5) ligada a Y. Como Mendel desconocía la existencia de los cromosomas sexuales, los patrones de herencia ligada a X e Y no son rigurosamente mendelianos. Como una complicación más, en la herencia autonómica dominante se puede llevar el gen y no mostrar el fenotipo (o manifestarlo en forma intermedia); el rasgo puede ir cambiando cualitativamente en el tiempo (este fenómeno se conoce como anticipación), y también puede ser relevante la procedencia paterna o materna del gen (impresión génica).

Si se toma en consideración que la fórmula cromosómica del varón es 46, XY, resulta que el cromosoma X sólo se recibe de la madre y el cromosoma Y sólo del padre, lo cual es otra forma de impresión génica.

Otro hecho relevante es que las células con núcleo (células eucarióticas) tienen material genético extranuclear en las mitocondrias (y en las plantas y algas también en los cloroplastos). Como las mitocondrias sólo proceden del oocito en condiciones normales, se tiene otra forma de impresión génica. Los problemas de la Genética Mendeliana han sido revisados recientemente (Morgado, 2001).

Es importante destacar que especificando las limitaciones, los postulados de Mendel han resultado muy fructíferos en el avance del conocimiento.

En la actualidad se ha comprobado que hay muchos genes que tienen impedido expresarse, y que ciertas proteínas son determinantes en la expresión de los genes. Todos estos mecanismos genéticos, que dependen de material genético que no es ácido nucleico, se conocen como mecanismos epigenéticos y serán objeto de un escrito posterior.

Los hechos referidos se han anticipado para enfatizar las gigantescas dificultades que enfrentaron los investigadores cuando dilucidaron las bases moleculares de la genética.

En la Tabla 1 se resumen en orden cronológico hitos de la genética anteriores a la “revolución de la genética”, que se inició con la dilucidación de la estructura del ADN (ácido desoxirribonucleico) en 1953. Algunos de los hechos o descubrimientos citados tienen sólo importancia histórica (por ejemplo los trabajos de Kölreuter), mientras otros serían aclarados sólo con el avance de la investigación (por ejemplo, el papel de los ácidos nucleicos en la codificación de la secuencia de aminoácidos de las proteínas, su estructura primaria).

Como la Genética nació formalmente sólo a principios del siglo XX, en el curso de esta narración será necesario avanzar y retroceder en el tiempo, por lo cual las Tablas 1 y 2 se intenta que sean una ayuda para establecer en que año se hizo cada descubrimiento. No todos los hitos descritos en las Tablas son desarrollados en el texto (por ejemplo, Miescher descubrió el ADN en 1871, y sólo mencionó la posibilidad de su importancia biológica en una carta a un hermano, por lo que no se desarrolla su descubrimiento; la insulina se descubrió en 1922 por Banting, Best y McLeod, su estructura se estableció por San-

ger en la década de los 1950; se sintetizó químicamente a fines de los 1960; se clonó su gen a inicios de los 1970 y se obtuvo por ADN recombinante en 1975 utilizando un gen sintético). Es importante señalar que como estas Tablas se construyeron basándose en una división arbitraria de la historia de la Genética molecular, en esta primera parte se llega sólo hasta 1962, aunque se adelantan algunos descubrimientos posteriores que anularon o modificaron el conocimiento establecido (por ejemplo, en 1970 se descubrió la enzima transcriptasa reversa, que sintetiza ADN a partir de ARN, lo que aparecía como un evento contrario a lo ortodoxo, según el Dogma Central de la Biología Molecular). En algunos casos se reitera información para mantener el hilo de la narración (por ejemplo Beadle y Tatum aparecen en las Tablas 1 y 2), o se introducen otros descubrimientos que tendrán mayor relevancia para dicho período (el inicio de la Tabla 2 vuelve a 1934, aunque la Tabla 1 había concluido en 1953; la localización del ADN sólo en el núcleo celular, a diferencia del ARN que está tanto en el núcleo como en el citoplasma es una clave interesante para establecer su función; las técnicas de fraccionamiento celular fueron determinantes en correlacionar estructura y función).

En el Principio....

Los Periodos Clásico y Romántico

Es un aserto común que la revolución de la genética comenzó en 1953, cuando James Watson y Francis Crick publicaron su modelo del ácido desoxirribonucleico (ADN), destacando las propiedades biológicas que confería la estructura química por ellos determinada. La dilucidación de la estructura del ADN se obtuvo utilizando el material cristalográfico de otros laboratorios, en los que participaban Rosalyn Franklin y Maurice Wilkins. La proposición de la estructura de ADN por Watson y Crick ha sido motivo de controversia, ya que aparentemente Wilkins regaló a Watson y Crick una fotografía de difracción de rayos X sin la autorización de Franklin.

Los retratos de estos cuatro científicos, tomadas en el período de máximo entusiasmo por el descubrimiento de la estructura del ADN aparecen en la Figura 1.



Francis Crick
(1916 – 2004)



Rosalind Franklin
(1921 – 1958)



James Watson
(1926 -)



Maurice Wilkins
(1916 – 2004)

Figura 1 Retratos

La influencia de la Genética ha resultado ser tan determinante en nuestra visión del mundo que un conocido biólogo (Stent, en una recopilación de 1989) ha establecido una analogía entre la historia de la genética molecular con el desarrollo de la humanidad. Así, se habla de distintos períodos en el desarrollo de la Genética molecular: el primero de ellos, también llamado período clásico comenzó en el neolítico y terminó al inicio de los 1940, cuando se propuso que la función de los genes era codificar las proteínas. Este postulado de Beadle y Tatum, “un gen – una enzima”, data de cerca de 1941 (Judson, 1996) y se estableció en base a que mutantes del hongo *Neurospora crassa* era incapaces de vivir en medios que carecían de ciertos nutrientes, lo que se atribuyó a alteraciones de las enzimas necesarias para sintetizarlos.

El segundo período o período romántico comenzó en los 1940 cuando se trató explicar los problemas de

la auto-reproducción biológica en términos moleculares y terminó con la confirmación, en 1952, que el ADN es el material hereditario (Hershey y Chase demostraron que de los virus bacterianos, bacteriófagos, penetra a la bacteria el ADN y no la proteína).

El tercer período o período dogmático se inició en 1953 con la propuesta de la estructura en doble hélice por Watson y Crick y culminó en 1961 con la dilucidación del código genético (Nirenberg y Matthaei demostraron en 1961 que el “triplete” UUU induce la incorporación del aminoácido fenilalanina a las proteínas, el resto de la codificación se completó en 1966).

El cuarto período o período académico comenzó con la recepción del Premio Nobel por James Watson, Francis Crick y Maurice Wilkins en 1962 y dura hasta nuestros días, en los que sería muy difícil encontrar un hito que finalice este período, ya que los descubrimientos espectaculares ocurren muy a menudo.

Los nombres de los períodos han sido discutidos por Thuillier (1985) y ameritan una breve explicación. El período clásico comprende prácticamente toda la historia del conocimiento hasta la aparición de una nueva disciplina, la Biología Molecular. Es difícil atribuir a un solo investigador la creación de todo un campo de la ciencia, así como precisar la fecha de su fundación. Sin embargo, hay un relativo consenso en que un físico que se pasó a la Biología, Max Delbrück, fue la influencia que aglutinó a un grupo de investigadores interesados en los bacteriófagos a desarrollar lo que conocemos actualmente por Biología molecular. El espectro de campos que estudia la Biología molecular se ha expandido grandemente, y según James Watson (2005), esta disciplina alcanzó su madurez cuando se completó el primer borrador del Genoma humano en 2002. El genoma es todo el patrimonio genético de un organismo, y el estudio de los genomas ha originado otra ciencia, la Genómica.

El período dogmático de la Biología molecular se inicia con la instauración del “dogma” que expresa que la información puede fluir de ácido nucleico a proteína y nunca a la inversa. Se reconoce a F. Crick como el padre de esta idea, que se gestó entre 1952 y 1953 en conversaciones con James Watson, antes de la resolución de la estructura del ADN. Este concepto se consolidó con dos

artículos de Crick que aparecieron en 1958 y 1970 (para demostrar la velocidad de cambio de los conceptos, este último año H. Temin y D. Baltimore descubrieron la enzima transcriptasa reversa, que permite formar ADN a partir de ARN que es usado como molde).

Durante el período dogmático se trabajó fundamentalmente en torno a la idea del traspaso de información genética de ADN a ARN (transcripción) y de este último a síntesis de proteínas (traducción).

El período académico corresponde a la consolidación de la biología molecular. Como esta categorización se hizo hace bastante tiempo (Thuillier, 1985; en una recopilación de artículos publicados anteriormente), este autor postuló que el mayor interés científico, utilizando las herramientas de la Biología molecular, se desplazaría hacia la Neurobiología. De hecho, Crick se dedicó a este campo, aunque la revolución del ADN recombinante alcanzó un resultado espectacular en 1975 con la inserción de un gen sintético codificador de insulina humana en bacterias.

Durante el período académico ocurrieron los avances más espectaculares del conocimiento en genética, aunque se había pensado erróneamente que el campo estaba agotado (algo similar ocurrió con la física en el siglo XIX, y no hay que olvidar que varios de los inspiradores de la genética molecular provenían de la física).

En la Tabla 1 se consignan hitos del conocimiento de la genética vigentes en la época de la proposición del modelo de la estructura del ADN. Es importante reiterar que algunos de ellos aparecen poco relevantes a primera vista, pero su importancia se hará patente a medida que se avance en la historia.

La dilucidación de la estructura del ADN corresponde al inicio del tercer período o período dogmático y ha sido referida por sus mismos protagonistas: Watson publicó “La doble hélice”, “Pasión por el ADN” y “Genes, chicas y laboratorios” (es más adecuado el título en inglés: “Genes, Girls and Gamow”) y recientemente “ADN: el secreto de la vida”; Crick lo hizo en “Que loco propósito” y Wilkins también escribió su autobiografía “El tercer hombre del ADN”. La cuarta participante en esta aventura científica (Rosalyn Franklin) lamentablemente murió muy joven, en 1958, y no pudo contar su versión de la historia.

Esta aparente digresión del tema es importante, ya que los libros de Watson se inician con un prólogo escrito por un partícipe de la historia y resultan bastante singulares, dado que los introductores a cada uno de los libros previenen que la información dada por el autor no es muy confiable. Por otra parte, del único sobreviviente de esta tetrada, James Watson, se tienen opiniones muy dispares - ha sido llamado el “Calígula de la Biología” - aunque es también defendido en forma entusiasta (Stent, 1989).

Con independencia de la opinión que se pueda tener de J. Watson, debe reconocerse su inspiración en construir el modelo de la estructura del ADN, una importante participación en la dilucidación del código genético y en el conocimiento de la síntesis de proteínas. Watson ha sido inspirador de generaciones de científicos que han hecho contribuciones relevantes y ha resultado un excelente administrador de recursos en sus laboratorios y también en el Proyecto Genoma. Varios de sus discípulos han ganado el Premio Nobel, incluyendo el de 2007. Sus libros, tanto científicos como ensayos están muy bien escritos y son muy entretenidos.

Los cuatro libros testimoniales de Watson abarcan períodos distintos que corresponden aproximadamente al desarrollo explosivo de la genética. En “La doble hélice” se resume el descubrimiento de la estructura del ADN; en “Genes, chicas y laboratorios” se narra la dilucidación del código genético y de los mecanismos de la síntesis proteica. En “Pasión por el ADN” se revisan aspectos biográficos y fundamentalmente aspectos éticos de la utilización de los conocimientos de la estructura del ADN y el inicio del Proyecto Genoma, del cual fue el primer director. Su último libro “ADN: el secreto de la vida” da una panorámica muy entretenida de la genética.

Resulta extraño que la mayoría de los involucrados en la estructura del ADN manifiesten que tuvieron como primera inspiración el libro de Edwin Schrödinger “¿Qué es la vida?” (Schrödinger, 1984), ya que este autor postula a las proteínas como las portadoras del mensaje genético.

Estas fundamentales moléculas son condensaciones de aminoácidos, de los cuales se encuentran 20 en la naturaleza. La secuencia de aminoácidos de una proteína se denomina estructura primaria, y este nombre se estableció por Hofmeister y Fischer en 1902 (King y Stansfield,

1997). Si una proteína estuviera constituida por sólo una unidad de cada uno de los 20 aminoácidos naturales, habría $2,43 \cdot 10^{18}$ secuencias distintas (20!). Este número tan grande de posibilidades ha hecho siempre muy tentador considerar a las proteínas como codificadores de información.

Las proteínas son “polímeros” de aminoácidos. Estas moléculas portan simultáneamente grupos amino ($-NH_2$) y carboxilo ($-COOH$), que se condensan por medio de “enlaces peptídicos” (el grupo carboxilo de un aminoácido con el amino del siguiente). Esto implica que las proteínas tienen una cierta “direccionalidad” (de amino libre a carboxilo libre). La “dirección de la síntesis proteica se estableció por Dintzis en 1961.

En la Tabla 1 aparece una diversidad de descubrimientos que implicaban a las proteínas en una variedad de procesos vitales (por ejemplo, como enzimas por Sumner en 1926), y en localizaciones que sugerían un papel importante en la transmisión del material hereditario (por ejemplo, histonas nucleares por Kossel en 1884). Por otra parte, si cada proteína ha de tener una secuencia específica, esta estructura ha de estar codificada de alguna manera.

Las proteínas están constituidas por átomos de carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y oxígeno (O), pero también pueden contener azufre (S). Esta característica permitió confirmar a los ácidos nucleicos, en cuya estructura participan los mismos átomos que en las proteínas, aunque que no contienen azufre pero sí fósforo (P), como los portadores de la información genética por Hershey y Chase en 1952.

Edwin Schrödinger (1887 – 1961), que había ganado el Premio Nobel de Física en 1933, dictó en Febrero de 1943 en Dublín, Irlanda, una serie de conferencias que resumió en un pequeño libro en 1944. Como “¿Qué es la vida?” no es un libro fácil de conseguir, transcribiré algunas de las ideas más relevantes del autor sobre lo que se conocería posteriormente como “código genético”. Hay que insistir que en 1943 aún no había sido esclarecida la naturaleza del material genético, que fue realizada por Avery, McLeod y McCarthy en 1944 (Gribbin, 1989). Es extraño que siendo Schrödinger físico, y habiendo dedicado todo el capítulo 3 a “mutaciones” no considerara que el

mayor efecto mutagénico se obtiene a 260 nm (zona de mayor absorción de la luz ultravioleta por el ADN) y no a 280 nm (zona de mayor absorción de la luz ultravioleta por las proteínas).

En su capítulo 2, Schrödinger expresa que “...cromosomas, los que contienen una forma de clave o texto cifrado el esquema completo de todo el desarrollo futuro del individuo y de su funcionamiento en el estado maduro”. Un poco más adelante afirma “que el término “clave” o texto cifrado es demasiado limitado”. Las estructuras cromosómicas son al mismo tiempo los instrumentos que realizan el desarrollo que ellos mismos pronostican”. El capítulo termina con “Y evidentemente el gen es algo más que una homogénea gota de líquido. Probablemente se trata de una gran molécula de proteína, en la que cada átomo, cada radical, cada anillo heterocíclico, tiene un papel individual y más o menos distinto del que tiene cualquiera de los otros átomos, radicales o anillos”.

Unos años más tarde, Watson (1965), en una de las primeras versiones de su “Biología Molecular del Gen”, expresó que es imposible que la proteína pueda servir como “molde” para generar otras proteínas, ya que se requería un molde para el molde, y así hasta el infinito (una versión molecular del “homúnculo” o de las “matrioshkas” o muñecas rusas). Sin embargo, este argumento ya había sido planteado por J. B. Sumner, que demostró que las enzimas son proteínas en 1926 (por lo menos la mayor parte de las enzimas conocidas actualmente son proteínas, aunque también hay ácidos nucleicos que cumplen con dicho papel, como se verá en un escrito posterior). En el examen doctoral de A. Dounce (cerca de 1952), cuando Sumner preguntó a Dounce ¿cómo se sintetizan las proteínas?, este respondió “por medio de enzimas”. La pregunta siguiente fue ¿cómo se sintetizan estas enzimas?, lo cual conducía obviamente a una cadena ad infinitum (Judson, 1996).

En la quinta (y última edición) de “Biología Molecular del Gen” (Watson et al., 2006) se repite este argumento de un modo más elegante, pero sin indicar su procedencia.

Volviendo a la idea de la codificación de Schrödinger, en ¿Qué es la vida?, aparece más adelante, en su capítulo 5: “A menudo se ha preguntado cómo, en esta

diminuta mancha de materia, el núcleo de un óvulo fertilizado, puede estar contenida una clave elaborada y que contiene todo el desarrollo futuro del organismo. Una asociación bien ordenada de átomos, capaz de mantener permanentemente su orden, parece ser la única estructura material concebible que ofrece una variedad de posibles organizaciones ("isoméricas") y que es suficientemente grande como para contener un sistema complicado de "determinaciones" dentro de reducidos límites espaciales. En efecto, el número de átomos de una estructura tal no necesita ser muy grande para producir un número casi ilimitado de posibles combinaciones. Como ejemplo, pensemos en la clave Morse. Los dos signos diferentes del punto y raya, en grupos bien ordenados de no más de cuatro, permiten treinta especificaciones diferentes. Ahora bien, si agregamos un tercer signo, usando grupos de no más de diez, podríamos formar 88.572 «letras» diferentes; con cinco signos y grupos de hasta 25, el número asciende a 372.529.029.846.191.405.

Podría objetarse que la comparación es deficiente, ya que los signos Morse pueden tener una composición diferente (por ejemplo: .-- y ..-), constituyendo por tanto una analogía defectuosa de la isomería. Para remediar este defecto, escojamos, en el tercer ejemplo, solamente las combinaciones de 25 símbolos y sólo aquéllos que contengan exactamente 5 de cada uno de los 5 tipos supuestos (5 puntos, 5 rayas, etcétera). Un cálculo aproximado da un número de 62.330.000.000.000 combinaciones, representando los ceros a la derecha las cifras que no me he tomado el trabajo de calcular"

Ya he señalado la extrañeza que me produce que la mayoría de los implicados en dilucidar la estructura de ADN manifiestan haber tenido "¿Qué es la vida?" como fuente de inspiración. Según Watson, Crick dejó la física por la biología después de leer este libro. Gribbin (1989) extiende la influencia de Schrödinger a Wilkins, Luria, Delbrück y Chargaff, importantes protagonistas de esta historia. Según Judson (versión de 1996) Watson decidió dedicarse a la genética tras leer este libro, pero además narra que la inspiración de Schrödinger fue un trabajo de Delbrück sobre el gene que apareció en 1935. Curiosamente, en entrevistas posteriores (Judson, 1984) esta influencia de "¿Qué es la vida?" no aparece.

Lo que sí es muy claro es que Schrödinger postuló una forma de codificación que habría de encontrar posteriormente su base química.

La Doble Hélice: El Periodo Dogmático

Tanto Watson como Crick expresan en sus memorias que no estaban interesados inicialmente en el ADN (Watson, 2000) y que fueron inspirados por Wilkins y Franklin. Estos investigadores trabajaban en otros laboratorios y poseían la "exclusiva" del ADN. Hay otro hecho interesantísimo: A. Dounce había postulado en 1952 que el ácido ribonucleico (ARN) actuaba como intermediario en la síntesis de proteínas, que cada tres bases del ARN se codificaba un aminoácido específico, y que el ARN se sintetizaba a partir del ADN en el núcleo celular (Judson, 1996; Gribbin, 1989). Este trabajo seminal – que prácticamente resume toda la investigación genética del período dogmático – fue conocido por Crick en conversaciones con Dounce, y su importancia reconocida mucho más tarde (Judson, 1996).

En 1953 se sabía que el ADN portaba la información genética por el trabajo de Avery, McLeod y McCarthy de 1944 que indicaba que el "principio transformante" de los neumococos era ADN. Este trabajo estaba basado en el descubrimiento de Frederick Griffith de 1927, de que neumococos patógenos muertos por calor al ser inyectados a ratas al mismo tiempo que neumococos vivos no patógenos enfermaban a los animales experimentales, y que de la circulación de estos podían aislarse neumococos patógenos vivos. Estos experimentos fueron denominados de "transformación".

Avery, McLeod y McCarthy consiguieron aislar una molécula (que a postre resultó ser el ADN), que al ser incorporada a neumococos no patógenos los transformaba en patógenos. La historia de este descubrimiento es fascinante, ya que el informe original fue publicado en Journal of Experimental Medicine en plena segunda guerra mundial y hay controversia sobre su verdadero impacto, ya que no reconoce las implicancias genéticas del hallazgo. Estos autores no identificaron fehacientemente al ADN como el material genético en su publicación, pero sí en cartas que fueron conocidas por los mentores de James Watson, Max

Dëlbruck y Salvador Luria (Judson, 2003). El fabuloso descubrimiento del “principio transformante” aparentemente fue ignorado por algunos años y su importancia no reconocida por ser considerado “premature”, según la opinión de un distinguido biólogo molecular (Stent, 1972). Curiosamente, el autor principal del trabajo en referencia no estuvo de acuerdo con este aserto (Avery, 1972), un modo científico de decir “no me ayude tanto compadre”.

El descubrimiento de Avery, McLeod y McCarthy se confirmó por el experimento de Hershey y Chase de 1952 en el que por doble marca radioactiva (nitrógeno en los ácidos nucleicos y azufre en las proteínas) los virus que atacan a las bacterias sólo ingresaban ácidos nucleicos y no proteínas a la célula en la que se establecían.

A semejanza de las proteínas, los ácidos nucleicos también son polímeros, que se obtienen por la condensación de unidades llamadas nucleótidos. Los nucleótidos están constituidos a su vez por una base nitrogenada, de las cuales hay dos tipos generales: pirimidinas (anillos de seis miembros, y que en el ADN tiene como representantes a la timina y citosina) y purinas (anillos de nueve miembros, de los cuales existen en el ADN la guanina y adenina), un azúcar con una estructura cíclica de 5 átomos de carbono (pentosas: desoxirribosa en el ADN y ribosa en el ARN) y fosfato. El ADN y ARN difieren en la estructura espacial del polímero, en el azúcar y en que en el ARN no se encuentra la pirimidina timina, sino otra pirimidina, el uracilo. La estructura de los nucleótidos era conocida en 1953, y Chargaff en 1950 había establecido que siempre hay una purina por cada pirimidina en el ADN. Esta relación se conocía por las “reglas de Chargaff”, y este autor se quejó de no haber obtenido el merecido reconocimiento. Es interesante hacer notar que este trabajo es uno de los pocos que aparecen en las referencias de las famosas publicaciones de Watson y Crick en *Nature* de 1953 (hay una traducción reciente en *Mundo Científico* 2003: 243; 41 – 47).

Se había postulado ya en 1941 por Beadle y Tatum, que los genes codificaban para proteínas y que de alguna manera tenía que haber colinearidad entre las secuencias del ADN y la estructura primaria de las proteínas.

En la época de la dilucidación de la estructura de ADN recién se estaba comenzando a secuenciar la insulina (Sanger, 1958), por lo que había muy poco material para comparar secuencias de ADN y de proteínas.

La estructura helicoidal de la estructura secundaria de las proteínas había sido propuesta por Pauling y Corey en varios trabajos del inicio de la década de los 1950 (página web citada como Pauling, sin fecha en las referencias), y el mismo Pauling había postulado un modelo de triple hélice para el ADN (citado por Watson y Crick en 1953).

La historia del descubrimiento de la estructura del ADN está muy bien narrada en “La doble hélice”, por lo que haré una muy sucinta relación: Franklin y Wilkins habían descubierto estructuras alternativas para el ADN y logrado imágenes de cristalografía de rayos X de una de estas estructuras (como un nuevo hecho curioso, en ninguna de las publicaciones iniciales sobre la estructura de ADN se menciona la procedencia de este material biológico, que devendría en una materia “paradigmática” o canónica). Watson y Crick consiguieron copia de una de estas fotos y comenzaron a trabajar en base a ellas, lo que fue considerado una intromisión y una pérdida del “fair play” que caracterizaba a las universidades inglesas de la época. Utilizando el enfoque de Pauling, encargaron la realización de modelos moleculares mecánicos que culminaron con la estructura del ADN que es tan conocida en la actualidad.

El modelo de estructura del ADN es realmente hermoso, y sus eventuales ventajas biológicas fueron destacadas desde el principio por los autores. En la Figura 2 se muestra la fotografía de difracción, la doble hélice vista desde arriba y un esbozo de la técnica de cristalografía de rayos X. En la Figura 3 aparece la estructura del ADN abierta; en forma de escala de cuerdas, desarrollada para ver las interacciones (enlaces de hidrógeno entre bases) y finalmente un modelo tridimensional del ADN.

Una vez obtenida la estructura del ADN, quedaba la parte más fascinante: establecer cómo funcionaban los genes.

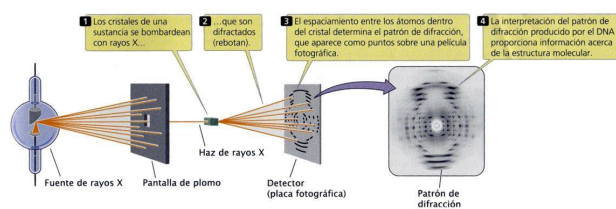
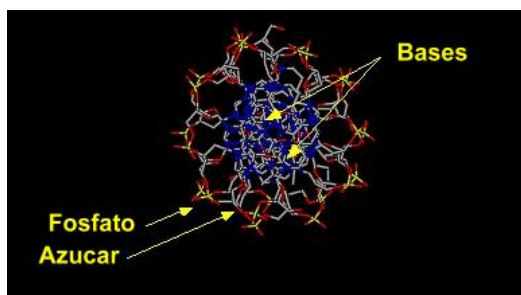
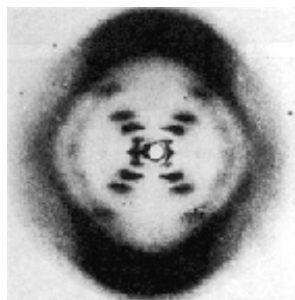


Figura 2: Fotografía de difracción de rayos X que Wilkins cedió a Watson y Crick y que culminó con el descubrimiento de la estructura del ADN (arriba).

El análisis cristalográfico sugirió una estructura helicoidal, que fue contrastada con modelos mecánicos, lo que condujo a la formulación de la estructura del ADN.

La doble hélice del ADN vista desde arriba (medio). El enrollamiento produce una estructura que puede ser analizada por técnicas cristalográficas.

Principio de la difracción de rayos X. Esta es una técnica compleja que utiliza métodos matemáticos para establecer estructuras espaciales de moléculas. (Según Pierce, 2006).

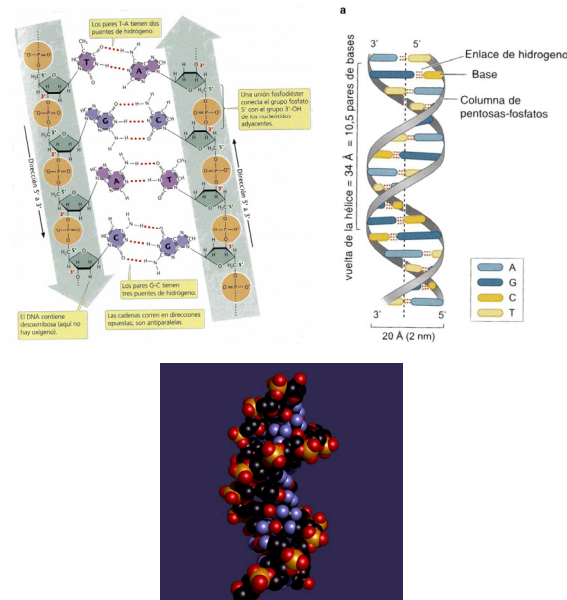


Figura 3: El ADN en tres versiones

Vista parcial de la estructura que muestra las cadenas corriendo en forma antiparalela, los enlaces de fosfato entre las unidades de azúcar y los enlaces de hidrógeno entre las bases nitrogenadas (arriba). Un nucleótido consta de un azúcar (desoxirribosa) que tiene 5 miembros, numerados de 1' a 5'. El grupo fosfato une las sucesivas pentosas por medio de enlaces que se establecen desde los carbonos 5' y 3' de la desoxirribosa. La dos cadenas corren en forma antiparalela, de modo que una de ellas deja un fosfato libre en 5' en un extremo y un fosfato libre en 3' en su otro extremo. Lo opuesto ocurre en la cadena complementaria. La base nitrogenada se encuentra hacia el interior de la estructura, estableciendo enlaces de hidrógeno entre una pirimidina de una cadena y una purina de la cadena complementaria. La hebra codificadora corre de 3' a 5'. (Según Pierce, 2006).

Disposición de las cadenas en forma de cinta. Se muestra, de modo simplificado, como se disponen las cadenas, como en una escalera de cuerdas en la cual los "travesaños" son las uniones por fosfato entre los azúcares, mientras los "peldaños" corresponden a los pares de bases unidas por enlaces de hidrógeno (medio). (Según Watson, 2006).

Estructura tridimensional del ADN. Es evidente la extrema compactación de la estructura. En las bacterias, la estructura bicatenaria no está unida a proteínas, mientras en los eucariontes esta enrollada en distintos niveles sobre las proteínas denominadas histonas.

El Código Genético

El modelo del ADN de Watson y Crick provocó un inmediato entusiasmo. La posibilidad de autoduplicación utilizando cada hebra como molde para su complementaria ofrecía la explicación de cómo el material genético se traspa en generaciones sucesivas. La dilucidación de la estructura tuvo también otras consecuencias, tales como el cuestionamiento si es válido entrometerse en la línea de investigación de otros grupos; si la primicia correspondía efectivamente a Watson y Crick, y si con los conocimientos de la época (Tabla 1) este descubrimiento podría haber sido realizado por otros investigadores. Estas consecuencias han sido analizadas por Stent (1989). En la Tabla 2 se repiten algunos hitos de los períodos clásico y romántico, para ubicarnos en dicha época. En dicho período se desarrollaron técnicas bioquímicas que serían muy útiles en dilucidar los compartimientos celulares. Un poco más adelante fue posible comparar los hallazgos del fraccionamiento celular, que consiste esencialmente en romper las células y obtener sus componentes por técnicas de centrifugación diferencial, con el estudio bioquímico de las fracciones y con imágenes de microscopía electrónica, con lo que se obtuvo un registro visual de procesos tan espectaculares como la síntesis de proteínas. En la Figura 4 se presenta una microfotografía electrónica en la que se muestra la síntesis proteica, y que será resumida más adelante.

En la época de la dilucidación de estructura del ADN se sabía de la existencia de más de un ácido nucleico, y el segundo de ellos (al ácido ribonucleico, ARN) se localizaba tanto en el núcleo como en el citoplasma. Muy posteriormente, se describieron muchas funciones para muchos tipos de ARN.

En 1934, Barbara McClintock (el único caso de una mujer que ha ganado el Premio Nobel sin compartirlo) había demostrado que en el maíz una traslocación (reajuste interno en la disposición del material genético) podía originar varios nucleolos y estableció las bases para demostrar que los genes (en este caso no codificadores de proteínas, sino de ácido ribonucleico ribosomal – rARN-) pueden existir en muchas copias. La importancia de este descubrimiento no se hará patente sino hasta 1965.

Ya se mencionó que Beadle y Tatum habían postulado que los genes codifican para proteínas, aunque se ignoraba totalmente los mecanismos para la síntesis proteica. En 1941 Brachet y Caspersson localizaron el ARN en el núcleo y citoplasma, y determinaron que la cantidad de ARN se asocia con la capacidad de síntesis proteica de la célula. Albert Claude entre 1943 y 1946 había comenzado a fraccionar células y descubrió que la fracción microsomal (una de las fracciones obtenidas por centrifugación) contiene la mayor parte del ARN celular.

Mirando hacia el pasado, y al igual que con el descubrimiento de la estructura de ADN, pareciera que todos los hechos empíricos necesarios para postular los mecanismos estaban presentes, especialmente considerando los trabajos de A. Dounce de 1952. Sin embargo, esto no fue así. Los protagonistas de la historia dan versiones ligeramente distintas y las fechas aparecen un tanto difuminadas, de modo que a veces la fecha del hallazgo no concuerda con aquella que es corrientemente aceptada.

Los artículos sobre la estructura del ADN aparecieron en "Nature" 24 de Abril y el 30 de Mayo de 1953 y llamaron la atención de un famoso cosmólogo, George Gamow (autor de la teoría cosmológica del "Big-Bang"), quien el 8 de Julio de 1953 comenzó una serie de intercambios epistolares con Watson y Crick. El 7 de febrero de 1954 preguntó a Watson la razón por la cual hay virus de plantas que sólo contienen ARN y planteó la posibilidad que el ARN también pueda llevar información genética. Gamow obtuvo de Watson modelos moleculares de ADN y comenzó a buscar la manera por la cual 20 aminoácidos pudieran disponerse directamente sobre la molécula de ADN (considerando su pregunta sobre el ARN ya mencionada, este experimento aparece bastante fuera de lugar). Este es el "código diamante de Gamow" (Hayes, 1998; Nanjundiah, 2004), en el cual cada uno de 20 aminoácidos encajaría en los huecos dejados entre las bases de las dos cadenas del ADN. Es bastante misterioso que Gamow considerara 20 aminoácidos (Watson y Crick no los habían contado y cuando lo hicieron llegaron a una lista similar pero con algunas diferencias de la de Gamow). En la actualidad es de todos conocido que si el código genético estuviese constituido por "palabras" secuenciales de sólo un nucleótido, sólo podrían codificarse cuatro aminoáci-

dos. Con dos podrían codificarse 16 aminoácidos ($4 \times 4 = 16$) y con palabras de tres nucleótidos (tripletes) podrían obtenerse 64 ($4 \times 4 \times 4$). Estas “palabras” de tres nucleótidos fueron llamados posteriormente “codones” por S. Benzer. Sin embargo, esta predicción de Dounce de 1952 no se confirmó sino hasta 1961.

Aunque se rechazó la idea que el ADN pudiera servir directamente como un “molde” para ordenar los aminoácidos en la secuencia (la estructura primaria de las proteínas), la idea de Gamow tuvo la insospechada consecuencia de generar en Mayo de 1954 el “Club de la Corbata de ARN”, en la que 20 miembros (uno por cada aminoácido) recibía una corbata con un dibujo bastante extraño (una hélice de ARN uncatenaria) y un alfiler de corbata con el conjunto de tres letras (del alfabeto) con el que se caracterizó a cada aminoácido. El uso de este alfiler tuvo como insospechada consecuencia que a Gamow no se le aceptaran sus cheques, ya que su nombre difería de las “iniciales” que aparecían en su alfiler de corbata.

Obviamente el interés del grupo era conocer más de la función del ARN. Curiosamente, el grupo como tal no realizó publicaciones en el tema, aunque hay que mencionar que 8 de los 20 miembros del “Club de la Corbata de ARN” ganaron el Premio Nobel en distintas disciplinas (Beckett, 2006).

El avance del conocimiento sobre el ARN sepultó definitivamente el modelo de Gamow, y la crucial sugerencia de Crick del “adaptador” (conocido posteriormente como ARN de transferencia, tARN) fue en una carta que Watson sitúa en 1955 y que no estaba destinada a su publicación, dirigida a los miembros del “Club de la Corbata de ARN”.

En esta época hubo otros hallazgos importantes que posteriormente fueron la base para una comprensión integrada de los fenómenos genéticos. Así, Porter descubrió el retículo endoplásmico (un sistema membranoso que aparece decorado con estructuras llamadas ribosomas, donde tiene lugar la síntesis proteica) en 1953. Este hallazgo es complementario a los A. Claude ya mencionados. En 1955 Hoagland obtuvo preparaciones libres de células (una vez más, componentes celulares obtenidos por fraccionamiento y separadas por centrifugación) capaces de sintetizar proteínas. P. Zamecnik logró algo semejante,

utilizando un sobrenadante libre de membranas, ATP, GTP, aminoácidos radioactivos y ARN). Estos descubrimientos fueron determinantes para realizar los primeros pasos en la resolución del código genético.

La síntesis de polinucleótidos artificiales comenzó en 1955 por Grunberg-Manago y Ochoa, y continuó en 1956 por los grupos de Ochoa y Kornberg. Estos experimentos fueron tan importantes que se les concedió el Premio Nobel en 1959 (a sólo cuatro años de las primeras publicaciones), en tanto que Watson, Crick y Wilkins tuvieron que esperar 9 años para recibirlo, en 1962.

En 1956 Palade y Siekevitz aislaron los ribosomas. Posteriormente fue posible obtener fotografías electrónicas que mostraban el crecimiento de las cadenas polipeptídicas sobre los ribosomas, a semejanza de una línea de montaje de la fabricación “en serie” (Figura 4).

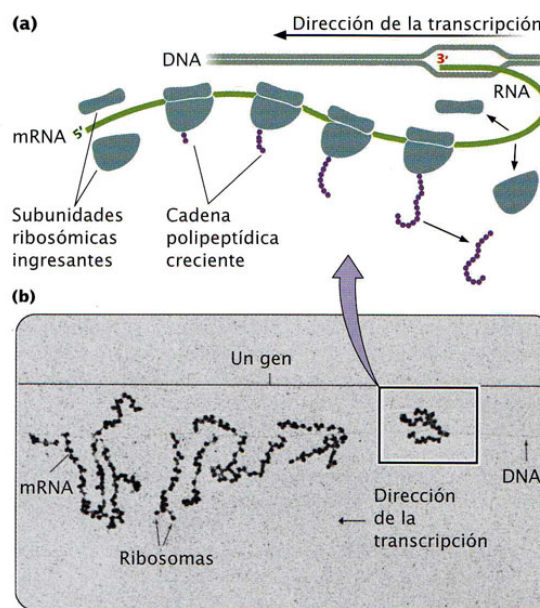


Figura 4: Síntesis proteica en bacterias. El ADN se transcribe a ARN mensajero, al cual se unen los ribosomas, formando un “polirribosoma”. Cada ribosoma está originando una cadena polipeptídica, a semejanza de una línea de montaje. (Según Pierce, 2006).

Hacia fines de 1957, Crick publicó su trabajo “Sobre la síntesis de proteínas”, que pese a su título habla más bien de los avances conseguidos hasta esa fecha y se refiere a los problemas de codificación.

La predicción de Crick del adaptador de 1955 se confirma por la caracterización de los complejos ARN de transferencia-aminoácidos (tARN-aminoácidos) por Zamcnik y colaboradores en 1958, año en que Meselson y Stahl probaron la replicación semiconservativa del ADN utilizando isótopos (nitrógeno 14 y nitrógeno 15) y centrifugación diferencial (este es considerado el experimento más hermoso de la Biología).

La visión global obtenida por estos experimentos es que en el núcleo celular se sintetiza ARN a partir de ADN; este ARN (ARN mensajero o mARN) sale del núcleo y se dispone sobre los ribosomas y un tercer tipo de ARN (el ARN de transferencia o tARN), que lleva cada molécula una molécula de aminoácido, lee el mARN y permite la unión de los aminoácidos en la secuencia correcta. El mARN está siendo leído por varios ribosomas simultáneamente, lo que origina una estructura en forma de rosario llamada “polirribosoma”. Estos hechos están resumidos en la Figura 5.

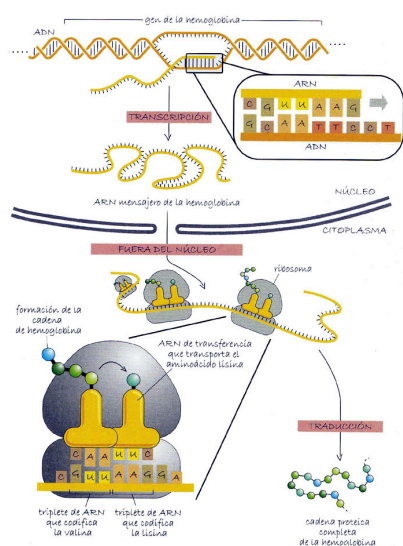


Figura 5: Resumen de la síntesis proteica en eucariontes. En el núcleo celular tiene lugar la transcripción (síntesis de ARN tomando como “molde” la cadena “codificadora” 3’-5’ del ADN. El mARN (ARN mensajero) sale del núcleo y se une los ribosomas, que van exponiendo los codones o tripletes uno a uno. Estos son complementarios a un codón de distintos tARN (ARN de transferencia), que llevan unidos aminoácidos específicos. Una enzima, llamada peptidil transferasa forma los enlaces peptídicos, con los cual se va sintetizando la proteína (traducción). (Según Watson, 2005).

Posteriormente se comprobaría que el ribosoma tiene actividad enzimática (papel que se atribuía sólo a las enzimas), y que la enzima que forma el enlace peptídico (la peptidil transferasa) es también una forma de ARN.

Hasta 1959 se pensaba que en la célula eucariótica toda la información genética está contenida en el núcleo celular, y ese año Chèvremont y Chèvremont-Comhaire descubren el sistema genético mitocondrial, dando las bases para la teoría endosimbiótica, para un modelo de herencia maternal que no sigue los postulados de Mendel (Morgado, 2001). Bastante tiempo después, este genoma fue el primero en ser secuenciado y constituyó un valioso modelo para diversos fenómenos genéticos que no adelantaremos aquí.

También en 1959, McKillen, Roberts y Britten descubren que la síntesis proteica ocurre en los ribosomas, mientras Freese postula que ciertas mutaciones pueden deberse a reemplazo de bases en el ADN.

Un experimento de gran proyección futura se realiza en 1960 por Doty, Marmur, Eigner y Schildkraut: la separación y recombinación de las cadenas de ADN. Este experimento conducirá posteriormente al ADN recombinante y a las sondas genéticas. Ese mismo año se presentan las estructuras tridimensionales de la mioglobina por Kendrew y colaboradores y de la hemoglobina por Perutz y colaboradores. Estos investigadores recibirán el Premio Nobel en Química en 1962, al mismo tiempo que Crick, Watson y Wilkins (en Medicina y Fisiología).

En 1961 tiene lugar una conversación crucial entre Crick, Brenner y Jacob que habría de original el modelo actual de la acción de los genes en la síntesis de proteínas tal como la conocemos hoy en día. Estos investigadores compartieron información y desde sus laboratorios (en distintos sitios geográficos) generaron la avalancha de información sobre genética molecular de 1961.

Así, Jacob y Monod publican “Mecanismos genéticos regulatorios en la síntesis de proteínas” y proponen al ARN mensajero (mARN) como mediador entre el ADN nuclear y su lectura por los tARN cargados con aminoácidos en el ribosoma. Este hallazgo es confirmado por numerosos otros investigadores (véase Tabla 2).

Josse, Kaiser y Kornberg demuestran que las cadenas del ADN corren en forma antiparalela. Este hallazgo será de crucial importancia en descubrir la hebra codificadora (su dirección es de 5' a 3' en el ADN, para generar un mRNA que corre 5' a 3' y que es el orden en que se lee el mensaje genético, de modo que los tripletes o codones del código genético son los que están dispuestos en el mRNA. Los tARN contienen los "anticodones" que tienen el mismo orden de nucleótidos que la hebra 3' – 5' del ADN).

Hall y Spiegelman hibridizan ADN y ARN unicatenarios (es decir, de una sola cadena), conocimiento que será de la mayor importancia en las sondas genéticas que se sintetizarán en el futuro.

Weiss y Nakamoto aíslan una ARN polimerasa, que fuera de comprobar la síntesis de ARN a partir de ADN (transcripción) servirá también para formar polirribonucleótidos sintéticos (es decir, genes sintéticos).

Un experimento de gran relevancia biológica es llevado a cabo por von Ehrenstein y Lipmann, que demuestran la universalidad del código genético utilizando la maquinaria genética de animal para formar proteínas a partir de aminoácidos portados por tARNs de bacterias.

Crick, Barnett, Brenner y Watts-Tobin demostraron que el código genético está constituido por palabras de tres letras, los codones, y hubo que descartar la posibilidad de un código solapado (es decir, en que cada nucleótido pudiera pertenecer a más de un codón). Esto implica, además, que el código genético es degenerado (acepta sinónimos: 61 codones codificadores para sólo aminoácidos que se incorporan a las proteínas).

Nirenberg y Matthaei realizan el 22 de Mayo de 1961 el crucial experimento que conduce al desciframiento de la primera palabra del código genético: un mRNA sintético cuya base es sólo uracilo (poliU) origina el polipéptido polifenilalanina. De este modo, $UUU_2U?$ = fenilalanina. Cuando el experimento se realizó, no se sabía si el número de "U" requerido era tres o cuatro (ya se expuso las razones por las que no podrían ser una o dos). El experimento de Nirenberg fue presentado muy poco tiempo después en el Quinto Congreso Internacional de Bioquímica en Moscú, inicialmente como una pequeña comunicación en una sala secundaria a la que asistió M.

Meselson. Este investigador quedó tan impresionado con la información, que avisó inmediatamente a Crick, y este último cedió una parte de su tiempo en la sesión plenaria para que Nirenberg diera a conocer sus resultados.

Inmediatamente después, muchos grupos utilizaron este enfoque para seguir investigando el código genético, cuya dilucidación estaba completa el año 1968, cuando, por su descubrimiento, Nirenberg recibió el Premio Nobel (compartido con Holley, que en 1965 secuenció el primer tARN y Khorana, que en 1967 colaboró en la dilucidación del código genético).

Dintzis demuestra la naturaleza vectorial de la síntesis proteica (de amino a carboxilo terminal). Littauer identifica dos tipos distintos de ARN en los ribosomas, que a su vez difieren en los procariontes (organismos generalmente unicelulares sin núcleo verdadero) y en los eucariontes, (organismos con células que poseen núcleo) mientras Waller y Harris identifican un gran número de proteínas distintas en los ribosomas. Estos hallazgos confirman la codificación de entidades distintas de proteína por los ribosomas.

En 1962 Henning y Yanofsky demuestran que la alteración de la secuencia de los codones puede conducir a la inserción errónea de aminoácidos en las proteínas. Gierer, Wagner, Rich, Hall, Staehelin y Noll descubren los polirribosomas, que posteriormente podrán ser observados a la microscopía electrónica.

Arber predice la existencia de las endonucleasas de restricción (enzimas que cortan las cadenas de ADN en secuencias específicas), que tendrán un rol decisivo en las técnicas de ADN recombinante y la ingeniería genética.

El período dogmático culmina con la recepción del Premio Nobel por Crick, Watson y Wilkins por la dilucidación de la estructura del ADN y por Perutz y Kendrew por sus modelos de estructura tridimensional de las proteínas.

A Modo de Síntesis

En esta primera parte de "La Genética molecular en perspectiva histórica" se hace una sucinta relación del conocimiento en mecanismos hereditarios desde la antigüedad hasta 1962, enfatizando en aspectos históricos y

anecdóticos ocurridos en las décadas de los 40 y 50, que corresponden a los períodos “romántico y dogmático” de la genética molecular. Esta división arbitraria se basa en un paralelo entre la historia de la Humanidad y la historia de la genética molecular.

Desde los albores de la humanidad hasta la proposición de una función para los genes, cerca de 1940 se habla de un “período clásico”.

La identificación del ADN como la base química de la herencia en 1952 es la culminación del segundo período, que se ha denominado “período romántico”.

La revolución en Genética se considera que comenzó con la proposición de la estructura del ADN por Watson, Crick, Wilkins y Franklin en 1953, inicia el tercer período, llamado “dogmático” y culmina cuando tres de estos investigadores recibieron el Premio Nobel en 1962.

El cuarto período es llamado académico y llega hasta nuestros días.

En la primera parte de esta serie se rinde un merecido homenaje a los trabajos pioneros de Gregor Mendel, dados a conocer en 1865. La investigación de Mendel permitió establecer mecanismos de transmisión “genética” que son útiles hasta nuestros días.

La Genética nació como ciencia bastante después de Mendel (Bateson, a inicios del siglo XX), aunque entre estas fechas hubo importantes descubrimientos que sólo fueron explicados posteriormente. Mucha de la información que condujo a los avances de la actualidad surgió de un modo bastante informal, y se postularon modelos con una base experimental que sería considerada muy débil en la actualidad.

Al terminar el período dogmático se tenía un modelo completo para la síntesis de proteínas. Este modelo explica cómo fluye la información genética de generación a generación por la duplicación del ADN; como se codifican las proteínas en el ADN; como se sintetiza un mRNA que traslada la información desde el núcleo al citoplasma en la célula eucarionte; como los aminoácidos son incorporados a la estructura primaria de la proteína por medio de un tARN que lleva un “anticodón” complementario a cada triplete del mRNA. Al final del período se ha comenzado a dilucidar el código genético y es posible sintetizar ácidos nucleicos. Se conoce la dirección en que se sin-

tetizan las proteínas y cual es la hebra codificadora. Ha sido posible establecer los primeros mapas genéticos en procariontes y se comienza a estimar el número de genes y su densidad. Comienzan a darse las bases para entender los mecanismos de la enfermedad genética, al conocerse los mecanismos de mutación del ADN.

Se conocen ARNs de distintas características y funciones: mRNA y ARN estructurales (ribosomales y de transferencia). Estos ARNs son codificados por el ADN y transcritos, por lo cual la función del ADN no ha de ser sólo codificar para secuencias de aminoácidos en las proteínas.

Bibliografías

AVERY O. (1972) http://profiles.nlm.nih.gov/CC/A/A/H/L/_/ccaahl.pdf

BECKETT A (2006) The RNA Tie Club and lessons to be learned in how to win a Nobel Prize. The Science Creative Quarterly. Issue Two. Sept. – Nov. 2006 <http://www.scq.ubc.ca/?p=538>

COBB M (2006) Heredity before genetics: a history. Nature 7: 953 – 958.

CRICK F (1989) Que loco propósito. Tusquets. Barcelona.

GRIBBIN J (1989) En busca de la doble hélice. Salvat. Barcelona.

HAYES B (1998) The Invention of the Genetic Code. American Scientist 86 (1):8-14.

JUDSON H F (1984) La búsqueda de respuestas. Fondo Educativo Interamericano. México.

JUDSON H F (1996) The Eighth Day of Creation. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.

JUDSON H F (2003) “The Greatest Surprise for Everyone” New England Journal of Medicine 348: 1812 – 1714.

KING R C, STANSFIELD W D (1997) A Dictionary of Genetics. V Ed., Oxford University Press. New York.

MORGADO E (2001) ¿Cuan Mendeliana es la Patología Genética Humana?

Clínica y Ciencia: 1,(3), 48-59. <http://www.fcm.usach.cl/clinicayciencia/>

NANJUNDIAH V (2004) George Gamow and the Genetic Code. Resonance pp. 44 – 50. <http://www.ias.ac.in/resonance/July2004/July2004p44-49.html>

PAULING L The search for the molecular helix. <http://profiles.nlm.nih.gov/MM/Views/Exhibit/narrative/biomolecules.html>

PIERCE B A (2006) Genética. 2ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid.

SANGER F (1958) The chemistry of insulin. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1958/sanger-lecture.pdf

SCHRÖDINGER E (1984) ¿Qué es la vida? 2ª Ed. Tusquets Editores. Barcelona.

STENT G (1972) Prematurity and uniqueness in scientific discovery. Scientific American 227, 84 - 93.

STENT G (1989) Las paradojas del progreso. Salvat. Barcelona.

THUILLIER P (1985) Como nació la Biología Molecular. En: Varios autores: Biología Molecular. Hispamérica Ediciones Argentina S. A., Buenos Aires.

WATSON J (1965) Molecular Biology of the Gene. W. A. Benjamin, Inc., New York.

WATSON J D (2000) La Doble Hélice. Alianza Editorial S. A. Madrid.

WATSON J D (2000) Pasión por el ADN. Drakontos. Crítica. Barcelona.

WATSON J D (2005) ADN: El secreto de la vida. Cuarta Edición. Taurus, Madrid.

WATSON J D (2006) Genes, chicas y laboratorios. Tusquets. Barcelona

WATSON J D, BAKER T A, BELL S P, GANN A, LEVINE M, LOSICK R (2006) Biología Molecular del Gen. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires

WILKINS M (2003) The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins Oxford University Press, USA.

Tabla 1: Algunos Hitos de la Genética Molecular
(Períodos Clásico, Romántico e inicio del Período Dogmático)
(Basado principalmente en King R. C., Stansfield W. D. (1997) A Dictionary of Genetics. V Ed., Oxford University Press. New York. Algunos hitos proceden de otras fuentes citadas en la bibliografía. Se ha modificado el año de algunos descubrimientos).

Año	Investigador(es)	Descubrimiento
1761-1767	J. G. Kölreuter	Trabajando en <i>Nicotiana</i> descubre que los híbridos son cuantitativamente intermediarios entre sus padres, y que cada progenitor contribuye en el mismo monto a las características de la progenie
1838	G. J. Mulder	Introduce por primera vez en la literatura científica el término “proteína”, que había sido creado por J. J. Berzelius, quien se lo mencionó en una carta, también en 1838
1856	G. Mendel	Inicio de los experimentos en <i>Pisum</i>
1865	G. Mendel	Presentación de resultados e interpretaciones en la Sociedad para el Estudio de la Ciencia Natural de Brunn
1866	G. Mendel	Publica “Experimentos en Hibridización de Plantas”. El escrito es ignorado.
1871	F. Miescher	Publica la técnica para separar el núcleo celular e informa el descubrimiento de la nucleína (mezcla de ácidos nucleicos y proteínas)
1878	W. Kühne	Crea el término “enzima”
1879	W. Flemming	Crea el término “cromatina”
1883	W. Roux	Sugiere que las estructuras filamentosas dentro del núcleo, que se tiñen con colorantes básicos son los portadores de los caracteres hereditarios
1883	A. Weismann	Distingue las líneas celulares somática y germinal y postula que sólo las últimas son transmitidas a las generaciones posteriores
1884	A. Kossel	Extrae proteínas básicas del núcleo y las denomina “histonas”
1900	H. de Vries, C. Correns y E. Tschermak	Redescubren independientemente el trabajo de Mendel
1901	H. de Vries	Crea el término “mutación”
1902	W. S. Sutton	Postula la teoría cromosómica de la herencia
1902	F. Hofmeister y E. Fischer	Postulan la estructura primaria de las proteínas como una condensación de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos
1902-1909	W. Bateson	Crea el término “genética” y una parte importante de la nomenclatura genética
1909	A. E. Garrod	Publica “Errores Congénitos del Metabolismo”
1909	W. Johannsen	Crea los términos “genotipo”, “fenotipo” y “gen”
1921	F. G. Banting y C. H. Best	Aíslan la insulina
1926	J. B. Sumner	Aísla y cristaliza la enzima ureasa, demostrando que es una proteína
1928	F. Griffith	Descubre la transformación en neumococos
	E. Heitz	Crea los términos “eucromatina” y “heterocromatina”
1931	B. McClintock	Demuestra la inversión de un trozo de cromosoma en el maíz
1934	M. Schlesinger	Demuestra que algunos bacteriófagos están constituidos por ADN y proteína
1934	B. McClintock	Establece las bases para el descubrimiento posterior (1965) que el rARN está codificado en múltiples copias
1935	J. B. S. Haldane	Calcula la frecuencia espontánea de mutación de un gen humano

Año	Investigador(es)	Descubrimiento
1937	F. C. Borden y N. W. Pirie	Descubren que el virus del mosaico del tabaco está hecho principalmente de proteína y contiene un 5 % de ARN
1939	E. L. Ellis y M. Delbrück	Inician la era moderna del estudio con fagos
	G. W. Beadle	Establece que el maíz deriva del teosinte por mutaciones en sólo 5 genes
1941	G. W. Beadle y E. L. Tatum	Establecen el postulado "un gen – una enzima"
	J. Brachet y T. Caspersson	Demuestran independientemente que el ARN se encuentra tanto en el núcleo como en el citoplasma y que el contenido de ARN está relacionado directamente con la capacidad de síntesis proteica de la célula
1943	A. Claude	Aísla la fracción microsomal y descubre que contiene la mayor parte del ARN celular
	E. Schrödinger	Dicta conferencias sobre Genética en Dublín
1944	O. T. Avery, C. M. McLeod y M. McCarthy	Describen el principio transformante del neumococo y sugieren que el ADN y no la proteína es la base química de la transmisión hereditaria
	E. Schrödinger	Publica ¿Qué es la vida? Este pequeño libro sería fuente de inspiración para el descubrimiento de la estructura y función del ADN
1946	M. Delbrück, W. T. Bailey y A. D. Hershey	Describen la recombinación genética en bacteriófagos
	J. Lederberg y E. L. Tatum	Describen la recombinación genética en bacterias
	A. Claude	Desarrolla técnicas de fraccionamiento subcelular
1948	A. Boivin, R. Vendrely y C. Vendrely	Demuestran que la cantidad de ADN es constante en cada conjunto haploide de cromosomas
1949	L. Pauling, H. A. Hitano, S. J. Singer e I. C. Wells	Demuestran que el gen H ^s produce una hemoglobina anormal
1950	E. Chargaff	Establece que en el ADN de distintas especies hay cantidades equivalentes de adenina-timina y de guanina-citosina ("reglas de Chargaff")
	L. Pauling y R. B. Corey	Establecen la estructura secundaria de proteínas como cadenas unidas por enlaces de hidrógeno y que asumen una estructura helicoidal
1952	F. Sanger y colegas	Comienzan a establecer la estructura primaria de la insulina. Descubren que la insulina posee dos cadenas polipeptídicas
	A. D. Hershey y M. Chase	Descubren que del fago ingresa a la bacteria principalmente ADN y que la proteína queda fuera
	D. M. Brown y A. Todd	Descubren que tanto el ADN como el ARN son polinucleótidos unidos 3'-5'
	A. Dounce	Anticipa la mayoría de los hechos de la síntesis de proteínas.
1953	J. D. Watson y F. H. C. Crick	Proponen un modelo de ADN como dos cadenas enrolladas entre sí y unidas por enlaces de hidrógeno entre purinas y pirimidinas

Tabla 2: Algunos Hitos de la Genética Molecular
(Del inicio del Período Dogmático al inicio del Período Académico)
(Basado principalmente en King R. C., Stansfield W. D. (1997) A Dictionary of Genetics. V Ed., Oxford University Press. New York. Algunos hitos proceden de otras fuentes citadas en la bibliografía. Se ha modificado el año de algunos descubrimientos).

Año	Investigador(es)	Descubrimiento
1934	B. McClintock	Establece las bases para el descubrimiento posterior (1965) que el rARN está codificado en múltiples copias
1941	G. W. Beadle y E. L. Tatum	Establecen el postulado “un gen – una enzima”
	J. Brachet y T. Caspersson	Demuestran independientemente que el ARN se encuentra tanto en el núcleo como en el citoplasma y que el contenido de ARN está relacionado directamente con la capacidad de síntesis proteica de la célula
1943	A. Claude	Aísla la fracción microsomal y descubre que contiene la mayor parte del ARN celular
1946	A. Claude	Desarrolla técnicas de fraccionamiento subcelular
1952	A. Dounce	Anticipa la mayoría de los hechos de la síntesis de proteínas.
1953	J. D. Watson y F. H. C. Crick	Proponen un modelo de ADN como dos cadenas enrolladas entre sí y unidas por enlaces de hidrógeno entre purinas y pirimidinas
1953	K. K. Porter	Descubre y da nombre al “retículo endoplásmico”
1955	M. B. Hoagland	Obtiene “preparaciones libres de células” que sintetizan proteínas
	M. Grunberg-Manago y S. Ochoa	Aíslan la polinucleotido fosforilasa (primera enzima descubierta que participa en la síntesis de ácidos nucleicos)
1955	F. H. C. Crick	Sugiere la síntesis proteica por aminoácidos que se polimerizan en orden sobre un molde de ARN, los aminoácidos están unidos a un ARN adaptador. De este modo preconiza la existencia del tARN. (Este hallazgo se atribuye a Crick en 1958 en King y Stanfield, 1997)
1956	S. Ochoa y colaboradores A. Kornberg y colaboradores	Sintetizan “in vitro” respectivamente, poliribonucleotidos (ARN sintético) y polidesoxiribonucleotidos (ADN sintético)
	G. E. Palade y P. Siekevitz	Aíslan los ribosomas
	P. C. Zamecnik y colaboradores	Caracterizan los complejos aminoácido-tARN
	M. Meselson y F. W. Stahl	Prueban la replicación semiconservativa del ADN (este es considerado el experimento más hermoso de la Biología)
1959	M. Chèvremont y S. Chèvremont-Comhaire	Descubren el sistema genético mitocondrial
	K. McKillen, R. B. Roberts y R. J. Britten	Descubren, en E. coli, que los ribosomas son el sitio de la síntesis proteica
	E. Freese	Propone que la mutación puede ocurrir como cambios en los pares de bases del ADN
1960	P. Doty, J. Marmur, J. Eigner y C. Schildkraut	Demuestran que las cadenas complementarias de ADN pueden ser separadas y recombinadas
	J. C. Kendrew y colaboradores	Determinan la estructura tridimensional de la mioglobina a 2 Angstrom de resolución
	M. F. Perutz y colaboradores	Determinan la estructura tridimensional de la hemoglobina a 5.5 Angstrom de resolución
1961	F. Jacob y J. Monod	Publican “Mecanismos genéticos regulatorios en la síntesis de proteínas”

Año	Investigador(es)	Descubrimiento
	F. Jacob y J. Monod	Proponen al mRNA como el mediador de la secuencia de aminoácidos entre el ADN del núcleo y su disposición en el ribosoma para aceptar los tARN en una secuencia determinada. Posteriormente la existencia del mRNA es demostrada por S. Brenner, F. Jacob, M. Meselson, y por F. Gros, W. Gilbert, H. Hiatt, C. G. Kurland y J. Watson
	J. Josse, A. D. Kaiser y A. Kornberg	Demuestran que las cadenas complementarias del ADN corren en forma antiparalela
	B. D. Hall y S. Spiegelman	Demuestran la posibilidad de formación de moléculas híbridas entre ADN uncatenario (de una sola cadena) y una molécula de ARN de secuencia complementaria
	S. B. Weiss y T. Nakamoto	Aíslan la ARN polimerasa
	G. von Ehrenstein y F. Lipmann	Demuestran la universalidad del código genético cuando consiguen que mRNA y ribosomas de conejo sinteticen hemoglobina utilizando tARN cargados con aminoácidos provenientes de la bacteria E. coli.
	F. H. C. Crick, L. Barnett, S. Brenner y R. J. Watts-Tobin	Demuestran que el código genético utiliza “palabras” (codones) de tres letras
	M. W. Nirenberg y J. H. Matthaei	Descubren por primera vez el significado de un codón cuando un sistema libre de células de E. coli al que se agrega ácido poliurídico (mARN sintético) origina el péptido polifenilalanina
	H. Dintzis	Demuestra que la síntesis proteica procede de amino a carboxilo terminal
	U. Z. Littauer	Demuestra que los ribosomas contienen dos ARN de distinto peso molecular, y que estos son distintos en bacterias que en animales
	J. P. Waller y J. I. Harris	Demuestran que los ribosomas bacterianos contienen un gran número de distintas proteínas
1962	U. Henning y C. Yanofsky	Demuestran que el cruzamiento entre tripletes puede conducir a inserción errónea de aminoácidos en las proteínas
	A. Gierer, J. R. Wagner, A. Rich y C. E. Hall, T. Staehelin y H. Noll	Estos grupos descubren independientemente los polirribosomas
	W. Arber	Predice la existencia de las endonucleasas de restricción
	F. H. C. Crick, J. Watson y Maurice Wilkins	Reciben el Premio Nobel por sus estudios sobre la estructura del ADN
	J. C. Kendrew y M. F. Perutz	Reciben el Premio Nobel por sus estudios sobre la estructura de la mioglobina y la hemoglobina